

**Potensi Ekstrak Kolagen Cumi-Cumi (*Loligo sp.*) dengan  
Penambahan Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas comosus* L.)  
untuk Penyembuhan Luka pada Kulit Mencit (*Mus musculus*)**

**Skripsi**



**CINDY TIEN  
31160066**

**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
Yogyakarta  
2020**

**Potensi Ekstrak Kolagen Cumi-Cumi (*Loligo sp.*) dengan  
Penambahan Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas comosus L.*)  
untuk Penyembuhan Luka pada Kulit Mencit (*Mus musculus*)**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana



**CINDY TIEN  
31160066**

**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
Yogyakarta  
2020**

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI**  
**SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Cindy Tien  
NIM : 31160066  
Program studi : Biologi  
Fakultas : Bioteknologi  
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (None-exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**“Potensi Ekstrak Kolagen Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) dengan Penambahan Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas comosus* L.) untuk Penyembuhan Luka pada Kulit Mencit (*Mus musculus*)”**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta  
Pada Tanggal : 05 November 2020

Yang menyatakan



(Cindy Tien)

NIM.31160066

## LEMBAR PENGESAHAN

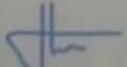
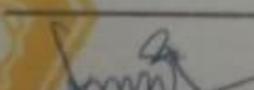
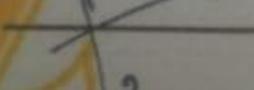
Skripsi dengan judul:

Potensi Ekstrak Kolagen Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) dengan Penambahan Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas comosus* L.) untuk Penyembuhan Luka pada Kulit Mencit (*Mus musculus*)

Telah diajukan dan dipertahankan oleh:

CINDY TIEN  
31160066

Dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat mendapatkan gelar  
Sarjana Sains pada tanggal 14 September 2020

- | Nama Dosen  | Tanda Tangan  |
|---|---|
| 1. Prof. Dr. L. Hartanto Nugroho, M.Agr.<br>(Dosen Pengaji I / Ketua Tim)             |  |
| 2. Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si<br>(Dosen Pembimbing Luar/ Dosen Pengaji II)      |  |
| 3. Vinsa Cantya Putri, SKH., M.Sc<br>(Dosen Pembimbing Pendamping/ Dosen Pengaji III) |  |

**DUTA WACANA**

Yogyakarta, 14 September 2020

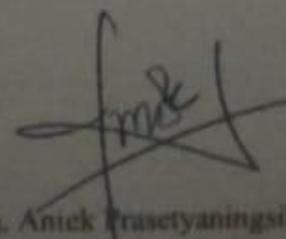
Disahkan Oleh

Dekan,

(Dr. Kijworo, M.Sc)

Ketua Program Studi Biologi,

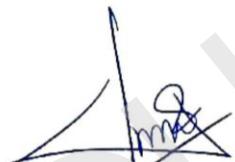
(Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si)

## HALAMAN PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Potensi Ekstrak Kolagen Cumi-Cumi (*Loligo sp.*) dengan Penambahan Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas comosus L.*) untuk Penyembuhan Luka pada Kulit Mencit (*Mus musculus*)  
Nama Mahasiswa : Cindy Tien  
Nomor Induk : 31160066  
Hari/Tanggal Ujian : 14 September 2020

Disetujui Oleh:

Pembimbing I,



(Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si)

NIK: 884E075

Pembimbing II,



(Vinsa Cantya P., drh., SKH.,M.Sc)

NIK: 194KE423

Ketua Program Studi Biologi,


(Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si)

NIK: 884E075

## HALAMAN PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Cindy Tien

Nim : 31160066

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

**“Potensi Ekstrak Kolagen Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) dengan Penambahan Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas comosus* L.) untuk Penyembuhan Luka pada Kulit Mencit (*Mus musculus*)”**

Adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang ada.

Yogyakarta, 7 september 2020



Cindy Tien

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan rasa syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat, penyertaan, dan perlindungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan membawakan judul “Potensi Ekstrak Kolagen Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) dengan Penambahan Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas comosus* L.) untuk Penyembuhan Luka pada Kulit Mencit (*Mus musculus*)”. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi syarat guna mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si) pada program sarjana Fakultas Bioteknologi di Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta.

Perjalanan panjang telah penulis lalui dalam proses penyusunan penulisan skripsi ini. Penulis tentu menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini tidak dapat berjalan dengan baik tanpa dukungan dari berbagai pihak, baik melalui material maupun moral. Oleh karna itu, dengan penuh kerendahan hati penulis ucapan terimakasih yang sedalam-dalamnya kepada :

1. Kepada Keluarga tercinta penulis, bapak Anas Anzwar Purba, ibu Ruth Malem S.Depari, kakak Meilisa Jean, abang ipar Wisnu Wardana Ginting, penulis ucapan terimakasih untuk dukungan melalui doa, curahan kasih sayang, nasihat, maupun pengorbanan material selama menempuh program studi sarjana.
2. Kepada Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si. selaku dosen pembimbing I, penulis ucapan terimakasih karena telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing penulis dan memberikan dukungan secara moral maupun material.
3. Kepada Vinsa Cantya P., drh., SKH.,M.Sc. selaku dosen pembimbing II, penulis ucapan terimakasih telah bersedia meluangkan waktu dan bimbingan selama penyusunan skripsi.
4. Seluruh Dosen, staf di Fakultas Bioteknologi dan terkhususnya laboran penulis retno, penulis ucapan terimakasih atas bimbingan, nasihat selama menempuh program sarjana hingga penyusunan skripsi.

5. Sahabat-sahabat terkasih penulis, Monica sari br Pinem, Meilani Apra, Angelia Astria, Novianti Barlin, Putri Pono, Ranti Simorangkir, Agnes Hellen, Windu Septri Manusawa, Pieter Daris, Geraldine Apricelline Ma'dika dan Anugrah Bejo Slamet, penulis ucapkan terimakasih untuk dukungan, senantiasa membantu dan semangat yang dicurahkan.
6. Teman-teman seperjuangan di Fakultas Bioteknologi angkatan 2016 penulis terutama untuk Risalah Hati.
7. Seluruh pihak-pihak telah senantiasa membantu dan berpengaruh dalam penyusunan dan penulisan skripsi yang penulis tidak dapat sebutkan satupersatu.

Diakhir kata penulis mohon maaf atas segala kesalahan maupun kekeliruan yang penulis lakukan. Penulis menyadari penyusunan skripsi ini jauh dari kata sempurna dikarenakan keterbatasan kemampuan dan pengetahuan yang penulis miliki. Maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun agar peneliti yang selanjutnya dapat berjalan dengan lebih baik. Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi peneliti-peneliti selanjutnya.

Yogyakarta, 7 September 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1. Cumi- Cumi ( <i>Loligo</i> sp.) .....	6
2.2. Kolagen .....	7
2.3. Nanas ( <i>Ananas comosus</i> L.) .....	9
2.4. Luka.....	10
2.5. Peran kolagen dalam penyembuhan luka .....	11
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>13</b>
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	13
3.2. Alat dan Bahan .....	13
3.2.1. Alat.....	13
3.2.2. Bahan .....	13
3.3. Prosedur Penelitian.....	14
3.3.1. Ekstrak Bonggol Nanas .....	14
3.3.2. Preparasi Mantel Cumi-cumi .....	14

3.3.3. Ekstraksi Kolagen.....	14
3.3.4. Purifikasi Kolagen .....	15
3.3.5. Perhitungan Rendemen Kolagen .....	15
3.3.6. Uji Kualitas Kolagen .....	15
3.3.7. Pembuatan Serum Kolagen.....	17
3.3.8. Pengujian Pre-Klinis Serum Kolagen.....	17
3.3.9. Analisis Data.....	20
3.4. Etika Penelitian.....	20
3.5. Alur Penelitian.....	21
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>22</b>
4.1. Pengaruh Ekstrak Bonggol Nanas Terhadap Rendemen Kolagen .....	22
4.2. Kadar Protein dan Kadar Air Kolagen .....	25
4.3. Sifat Fisik-Kimia Kolagen (pH, Kenampakan, dan Bau).....	28
4.4. Pengujian Mikrobiologi Kolagen .....	30
4.5. Pengujian Praklinis.....	31
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>42</b>
5.1. Kesimpulan.....	42
5.2. Saran .....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>50</b>

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 1. Komposisi kimia dan fraksi protein yang berbeda pada <i>L. duvauceli</i> .....	7
Tabel 2. Peranan Kolagen Dalam Proses Penyembuhan Luka .....	12
Tabel 3. Skoring Jumlah Sel Fibroblas .....	19
Tabel 4. Skor Kepadatan Jaringan Ikat .....	20
Tabel 5. Rata-rata Hasil Parameter Uji pada Kolagen .....	30
Tabel 6. Hasil Uji <i>Total Plate Count</i> dan Uji <i>Coliform</i> .....	30
Tabel 7. Hasil Pengamatan Rata-Rata Diameter Luka Mencit Selama 10 Hari ...	32
Tabel 8. Selisih Kesembuhan Luka pada Kulit Mencit .....	33
Tabel 9. Uji Statistik Data Pengamatan Luka pada Kulit Mencit .....	35
Tabel 10. Kenampakan Kesembuhan Luka pada Kulit Mencit .....	38
Tabel 11. Hasil Skoring Jaringan Ikat dan Fibroblas pada Luka Kulit Mencit ....	40

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar 1. Skema Morfologi Cumi-Cumi ( <i>Loligo</i> sp.) .....	6
Gambar 2. Bagan Alir Penelitian .....	21
Gambar 3. Hasil Rendemen Kolagen .....	23
Gambar 4. Hasil Kadar Protein .....	25
Gambar 5. Hasil Kadar Air Kolagen .....	26
Gambar 6. Kolagen Setelah Purifikasi .....	28
Gambar 7. Hasil Pengukuran pH pada Kolagen .....	29
Gambar 8. Kenampakan Jaringan Ikat dan Fibroblas pada Luka Kulit Mencit...	39

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Proses Ekstraksi Kolagen .....	49
Lampiran 2. Tabel Data Hasil Berat Basah dan Nilai Rendemen Kolagen.....	49
Lampiran 3. Data Pengamatan Kesembuhan Luka pada Kulit Mencit .....	50
Lampiran 4. Hasil Skoring Jaringan Ikat dan Fibroblas pada Luka Mencit.....	51
Lampiran 5. Dokumentasi Pengamatan Kesembuhan Luka Kulit Mencit .....	52
Lampiran 6. Analisa Statistik Data Ukuran Luka pada Kulit Mencit .....	56

**POTENSI EKSTRAK KOLAGEN CUMI-CUMI (*Loligo* sp.) DENGAN  
PENAMBAHAN EKSTRAK BONGGOL NANAS (*Ananas comosus* L.)  
UNTUK PENYEMBUHAN LUKA PADA KULIT MENCIT (*Mus musculus*)**

**Cindy Tien<sup>1</sup>, Aniek Prasetyaningsih<sup>2</sup>, Vinsa Cantya P<sup>3</sup>**

Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana  
Jl.Dr.Wahidin Sudirohusodo No. 5-25, Yogyakarta, 55224, Indonesia. Tel: 0274-  
563929

Email : [Cindytien2804@gmail.com](mailto:Cindytien2804@gmail.com)<sup>1</sup>, [Aniek@staff.ukdw.ac.id](mailto:Aniek@staff.ukdw.ac.id)<sup>2</sup>,  
[Vinsa.cantya.p@staff.ukdw.ac.id](mailto:Vinsa.cantya.p@staff.ukdw.ac.id)<sup>3</sup>

**ABSTRAK**

Kolagen merupakan kelompok protein struktural dari matriks ekstraseluler yang banyak ditemukan pada hewan multisel. Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) memiliki kandungan kolagen mencapai 30% dari total protein dengan persentase kadar yang berbeda pada setiap bagiannya. Mantel cumi-cumi merupakan salah satu bagian yang memiliki sumber kolagen cukup tinggi. Bonggol Nanas (*Ananas comosus*) merupakan limbah dari tanaman nanas yang dapat dimanfaatkan sebagai penghasil enzim bromelin untuk mempercepat reaksi hidrolisis protein menggantikan enzim bromelin murni yang lebih mahal. Ekstraksi kolagen pada mantel cumi-cumi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut CH<sub>3</sub>COOH 0,5 M dan ekstrak bonggol nanas dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% dilanjutkan hingga uji kualitas dan pembuatan serum kolagen. Ekstrak kolagen dengan konsentrasi 15% dipilih untuk pengujian preklinis berdasarkan hasil rendemen tertinggi sebesar 44,3% dan menghasilkan kolagen dengan kualitas yang paling mendekati standar BSN dengan kadar protein sebesar 47,47%, pH 4,5, pengujian TPC 0 koloni/g, dan negatif untuk total coliform tetapi kadar air belum memenuhi standar (36,35%). Serum kolagen dibuat dengan variasi konsentrasi 5 mg/mL, 10 mg/mL, dan 15 mg/mL. Pengujian serum kolagen dilakukan pada luka kulit mencit (*Mus musculus*). Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis luka selama 10 hari dan mikroskopis pada hari ke-10, konsentrasi serum kolagen 15 mg/mL memiliki kemampuan paling baik untuk mempercepat proses penyembuhan luka dilihat dari berkurangnya diameter luka hingga 82.75%, hasil skoring kepadatan jaringan ikat sebesar 3.3±0.5 dan jumlah sel fibroblas sebesar 3±0. Hasil uji statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan pada serum kolagen 15 mg/mL dengan kelompok kontrol positif maupun kulit normal.

Kata kunci : Kolagen, Mantel Cumi-cumi, Ekstrak Bonggol Nanas, Luka Kulit Mencit

**POTENTIAL OF COLLAGEN EXTRACT IN SQUID (*Loligo* sp.) WITH  
ADDITION OF PINEAPPLE WEEVIL EXTRACT (*Ananas comosus* L.)  
FOR HEALING WOUNDS ON MICE SKIN (*Mus musculus*)**

**Cindy Tien<sup>1</sup>, Aniek Prasetyaningsih<sup>2</sup>, Vinsa Cantya P<sup>3</sup>**

Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana  
Jl.Dr.Wahidin Sudirohusodo No. 5-25, Yogyakarta, 55224, Indonesia. Tel: 0274-  
563929

Email : [Cindytien2804@gmail.com](mailto:Cindytien2804@gmail.com)<sup>1</sup>, [Aniek@staff.ukdw.ac.id](mailto:Aniek@staff.ukdw.ac.id)<sup>2</sup>,  
[Vinsa.cantya.p@staff.ukdw.ac.id](mailto:Vinsa.cantya.p@staff.ukdw.ac.id)<sup>3</sup>

**ABSTRACT**

Collagen is a group of structural proteins from the extracellular matrix which is found in multicellular animals. Squid (*Loligo* sp.) has a collagen content of up to 30% of the total protein with different percentage levels in each part. The mantle of squid is one part that has a high source of collagen. Pineapple weevil (*Ananas comosus*) is a waste from pineapple plants that can be used as a producer of bromelain enzymes to accelerate the protein hydrolysis reaction to replace the more expensive pure bromelain enzyme. Collagen extraction in the mantle of squid was carried out by maceration method using 0.5 M CH<sub>3</sub>COOH solvent and pineapple weevil extract with varying concentrations of 5%, 10%, 15% and 20%, continued until quality testing and the manufacture of collagen serum. Collagen extract with a concentration of 15% was chosen for preclinical testing based on the highest yield of 44.3% and produced collagen with the closest quality to BSN standards with a protein content of 47.47%, pH 4.5, TPC testing 0 colony / g, and negative for total coliform but the water content did not meet the standard (36.35%). Collagen serum is made with various concentrations of 5 mg / mL, 10 mg / mL, and 15 mg / mL. Collagen serum testing was done on skin wounds of mice (*Mus musculus*). Based on the results of macroscopic observations of wounds for 10 days and microscopic observations on day 10, the serum collagen concentration of 15 mg / mL had the best ability to accelerate the wound healing process seen from the reduction in wound diameter to 82.75%, the connective tissue density scoring results of 3.3 ± 0.5 and the number of fibroblasts was 3 ± 0. Statistical test results showed no significant difference in serum collagen 15 mg / mL with the positive control group and normal skin.

Keywords : Collagen, Mantle of squid, Pineapple weevil extract, Skin wound of mice

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Indonesia termasuk dalam salah satu negara dengan potensi laut yang melimpah. Ratusan bahkan ribuan jenis biota laut dengan berbagai macam manfaat dapat ditemukan di negara kepulauan Indonesia, salah satunya adalah cumi-cumi (*Loligo* sp.). Di bidang perikanan, cumi-cumi menempati urutan ketiga setelah ikan dan udang yang memiliki komoditas peri kanan yang cukup tinggi. Persentase ekspor cumi-cumi di Indonesia mengalami peningkatan setiap tahunnya. Berdasarkan data hasil ekspor cumi-cumi, pada tahun 2018 meningkat hingga 34,19% dengan total ekspor 5.129,5 ton dan pada tahun 2019 mencapai 30,74% dengan total ekspor 7.406,7 ton. (KKP, 2018 & Badan Pusat Statistika, 2019). Cumi-cumi merupakan salah satu biota laut yang kaya akan kandungan protein, sebagian besar diantaranya merupakan kolagen. Kandungan kolagen yang dihasilkan dari cumi-cumi dapat mencapai 50-70% dengan persentase kadar yang berbeda pada setiap jenis dan bagiannya. Menurut penelitian Nagai (2004) dan Cozza *et al.* (2016) kadar kolagen yang terdapat pada mantel cumi (*Loligo vulgaris*) dan kulit cumi (*Hysanoteuthis rhombus*) dengan metode ekstraksi *pepsin soluble collagen* (PSC) sebesar 24.2% dan 35.6%. Berdasarkan penelitian Raman *et al.* (2012) kolagen pada mantel cumi-cumi (*L. duvauceli*) yang dihasilkan sebesar 12.1% dari 22.2% total kadar protein. Dalam review penelitian oleh Silva *et al.* (2014) mengenai *marine collagen* pada cumi-cumi sebesar 53% memiliki persentase yang cukup tinggi jika dibandingkan dengan kolagen pada beberapa biota laut lainnya.

Kolagen merupakan kelompok protein struktural dari matriks ekstraseluler yang banyak ditemukan pada hewan multisel. Menurut Setyowati *et al.* (2015), Kolagen memiliki fungsi dalam tubuh untuk memberikan kekuatan dan fleksibilitas pada jaringan tubuh seperti tulang, jaringan kulit, dan tendon.

Kolagen sudah banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri, terutama dalam bidang industri farmasi. Pemanfaatan dalam bidang industri farmasi diantaranya dapat dijadikan sebagai obat luka. (Kolodziejska *et al.*, 1999).

Kolagen komersial biasanya diperoleh dari organ tubuh hewan darat seperti babi, sapi, dan ayam, namun kolagen yang dihasilkan dari hewan tersebut dapat menimbulkan kontaminasi biologi seperti BSE (*Mad Cow Disease*), TSE (*Transmissible Spongiform Encephalopathy*), FMD (*Foot and Mouth Disease*) dan sebagainya. Selain menimbulkan kontaminasi, kolagen yang berasal dari babi masih menjadi batasan keagamaan pada negara tertentu (Aberoumand, 2012; Tziveleka *et al.*, 2017). Menurut Kolodziejska *et al.* (1999), kolagen yang diperoleh dari hewan laut dapat menghasilkan rendemen yang lebih besar yaitu 53% jika dibandingkan dengan kolagen yang diperoleh dari hewan darat. Kandungan asam amino yang tinggi pada hewan darat dapat menyebabkan proses denaturasi lebih cepat sehingga kualitas kolagen yang dihasilkan rendah. Oleh sebab itu penggunaan kolagen dari hewan laut adalah alternatif yang menjanjikan.

Ekstraksi kolagen pada umumnya dapat menggunakan metode asam atau metode secara enzimatis. Ekstraksi secara enzimatis mampu menghasilkan kolagen dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan metode asam (secara kimia) tanpa pembentukan produk samping (limbah) sehingga dapat mengurangi efek kerusakan pada lingkungan sekitar (Chaplin & Bucke, 1990). Enzim bromelin merupakan enzim protease terdapat pada tanaman nanas yang memiliki sifat sama dengan enzim papain, yaitu mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi molekul yang lebih kecil dan berperan untuk penyembuhan luka. Enzim bromelin mempunyai daya katalitik yang besar sehingga mampu meningkatkan kecepatan reaksi pemecahan protein hingga jutaan kali. Enzim bromelin dapat diperoleh dari buah, batang, daun, maupun bonggol nanas yang kurang pemanfaatannya. Kandungan bromelin tertinggi pada buah nanas terdapat dibonggolnya. (Christy, 2012; Marlina *et al.*, 2018). Pemanfaatan ekstrak bonggol nanas sebagai sumber enzim bromelin dapat mengantikan enzim bromelin murni sehingga mengurangi biaya produksi. Selain enzim bromelin, ekstrak bonggol nanas juga memiliki senyawa aktif tanin, flavonoid, saponin, dan polifenol

sebagai anti mikroba sehingga mampu mencegah terjadinya kontaminasi pada kolagen (Payne *et al.*, 2013)

Menurut Mansjoer *et al.* (2000) luka merupakan rusaknya kesatuan jaringan atau terdapat substansi jaringan yang rusak atau hilang. Luka dapat terjadi dikarenakan adanya faktor yang mengganggu sistem perlindungan pada tubuh seperti terkena panas, zat kimia, benda tumpul atau tajam, ledakan, listrik, ataupun akibat gigitan. Kolagen merupakan salah satu komponen kunci dalam penyembuhan luka, hal ini dikarenakan kolagen dapat menstimulasi serat dan jaringan baru pada daerah luka. Kolagen dapat merangsang mekanisme perbaikan tubuh yang terluka dan menginisiasi angiogenesis, sehingga odema dapat berkurang pada luka, juga memfasilitasi perpindahan fibrolas ke tempat luka sehingga mampu menghentikan pendarahan (Singht *et al.*, 2012). Berdasarkan pada latar belakang di atas maka dilakukan penelitian ekstraksi kolagen yang diambil dari cumi-cumi (*Loligo* sp.) dengan penambahan ekstrak bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) untuk penyembuhan luka pada kulit mencit (*Mus musculus*). Hasil penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan serum kolagen dari mantel cumi-cumi yang diesktraksi dengan penambahan ekstrak bonggol nanas untuk mempercepat proses penyembuhan luka pada kulit mencit.

## 1.2. Rumusan Masalah

1.2.1. Apakah pemberian variasi ekstrak bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) memiliki kemampuan untuk membantu menghasilkan kolagen dari mantel cumi-cumi (*Loligo* sp.) lebih baik berdasarkan nilai rendemen ?

1.2.2. Berapakah konsentrasi optimal dari ekstrak bonggol nanas (*A. comosus* L.) untuk dapat membantu menghasilkan kolagen dari mantel cumi-cumi (*Loligo* sp.) dengan kualitas terbaik berdasarkan standar BSN (Badan Standarisasi Nasional) tahun 2014 ?

1.2.3. Apakah serum kolagen dari mantel cumi-cumi berpengaruh terhadap kecepatan penyembuhan luka pada kulit mencit (*Mus musculus*) dilihat dari perubahan secara makrokopis maupun mikrokopis ?

### **1.3. Tujuan**

- 1.3.1. Mengetahui kemampuan ekstrak bonggol nanas (*A. comosus* L.) dalam membantu menghasilkan kolagen dari mantel cumi-cumi (*Loligo* sp.) melalui nilai rendemen berdasarkan berat basah kolagen.
- 1.3.2. Mengetahui konsentrasi optimal dari penambahan ekstrak bonggol nanas (*A. comosus* L.) dalam membantu menghasilkan kolagen dengan kualitas baik berdasarkan BSN (Badan Standarisasi Nasional) tahun 2014.
- 1.3.3. Mengetahui pengaruh pemberian variasi konsentrasi serum terbaik terhadap kecepatan penyembuhan luka pada kulit mencit (*Mus musculus*) dilihat dari perubahan secara mikroskopis dan makroskopis.

### **1.4. Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat yang diharapkan dari penelitian ini sebagai berikut :

- 1.4.1. Manfaat Teoritis :
  - a. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai potensi mantel cumi-cumi (*Loligo* sp.) sebagai penghasil kolagen dengan kualitas yang baik berdasarkan hasil rendemennya.
  - b. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai potensi limbah bonggol nanas (*A. comosus* L.) yang dapat dimanfaatkan sebagai penghasil enzim bromelin
  - c. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian variasi ekstrak bonggol nanas (*A. comosus* L.) dalam proses ekstraksi kolagen pada mantel cumi-cumi (*Loligo* sp.).
  - d. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai kemampuan serum kolagen dari mantel cumi-cumi (*Loligo* sp.) untuk mempercepat penyembuhan luka pada mencit (*Mus*

*musculus*) sebagai tahapan awal sebelum pengaplikasian terhadap penyembuhan luka pada manusia.

#### 1.4.2. Manfaat Praktis :

- a. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi bagi instansi kesehatan ataupun bagian terkait lainnya mengenai fungsi kolagen yang dapat mempercepat penyembuhan luka pada mencit (*Mus musculus*) sebagai model penyembuhan luka pada manusia.
- b. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai manfaat mantel cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dapat menghasilkan kolagen dan manfaat limbah bonggol nanas (*A. comosus* L.) yang dapat menghasilkan enzim bromelin untuk menggantikan enzim bromelin murni dalam proses ekstraksi kolagen mantel cumi-cumi (*Loligo* sp.).

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1. Kesimpulan

1. Hasil rendemen kelompok kolagen dengan penambahan ekstrak bonggol nanas yang memiliki nilai rendemen tertinggi terdapat pada konsentrasi 15% sebesar 44,3% diikuti oleh konsentrasi 10% sebesar 39%, konsentrasi 5% sebesar 37,5% dan 20% sebesar 31%.
2. Kelompok perlakuan dengan penambahan ekstrak bonggol nanas 15% menghasilkan kolagen dengan kualitas yang paling mendekati standar BSN memperoleh nilai kadar protein sebesar 47,47%, pH 4,5 paling mendekati 6,5, pengujian TPC 0 koloni/g, dan pada pengujian total coliform negatif.
3. Berdasarkan hasil pengujian praklinis pada luka kulit mencit (*Mus musculus*) secara makrokopis menunjukkan pemberian serum kolagen dengan konsentrasi 15% (15 mg/mL) yang diekstraksi dari penambahan ekstrak bonggol nanas 15% memiliki kemampuan paling baik dalam mempercepat proses penyembuhan luka dilihat berdasarkan diameter luka yang berkurang hingga 82.75% dan hasil uji statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol positif.
4. Berdasarkan hasil pengujian mikrokopis pada kulit mencit menunjukkan pemberian serum kolagen dengan konsentrasi 15% (15 mg/mL) memiliki kepadatan jaringan ikat dan sel fibroblas yang paling mendekati jaringan kulit normal hasil skoring kepadatan jaringan ikat sebesar  $3.3 \pm 0.5$  dan jumlah sel fibroblas sebesar  $3 \pm 0$ . hasil uji statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol positif maupun kulit normal.

## 5.2. Saran

1. Perlu adanya uji aktifitas dan pemurnian terhadap enzim bromelin pada ekstrak bonggol nanas untuk mengetahui efektifitas enzim dalam mengekstraksi kolagen lebih akurat dan baik.
2. Perlu dilakukan karakterisasi kolagen untuk mengetahui lebih detail tipe kolagen yang terkandung dalam mantel cumi-cumi.
3. Perlu adanya pengoptimalan konsentrasi, lama perendeman, dan dilakukannya metode liofilisasi pada proses ekstraksi kolagen agar kualitas kolagen yang dihasilkan lebih baik.
4. Perlu adanya analisa efek samping pemakaian kolagen cumi-cumi dengan penambahan ekstrak bonggol nanas untuk penyembuhan luka kulit terhadap tubuh mencit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aberoumand, A., 2012. Comparative study between different methods of collagen extraction from fish and its properties. *World Applied Sciences Journal*, 16(3), pp. 316–319.
- Alhana, P. Suptijah, K. Tarmam. 2015. Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen dari Daging Teripang Gamma. JPHPI 2015, Volume 18 Nomor 2. DOI: 10.17844/jphpi.2015.18.2.150.
- AOAC., 2005. Official Methods of Analysis (18 Edn). Maryland: Association of Official Analytical Chemist Inc .
- Arvanitoyannis, I.S., dan Kassaveti, A., 2008. Fish Industry Waste: Treatments, Environmental Impacts, Currentand Potential Uses, *International Journal of Food Science and Technology*, 43, pp. 726-745.
- Ayorbaba A, Widiastuti Nurhani, Ananta Arnoldus, dan Boli Paulus., 2019. Aspek biologi cumi-cumi (*loligo* sp.) yang tertangkap oleh nelayan di perairan manokwari. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*, 3, pp. 65-75.
- Badan Pusat Statistik. (2019, 12 13). *Publikasi: Badan Pusat Statistik*. Retrieved from Badan Pusat Statistik.
- BPOM. (2019). Peraturan Badan pengawas Obat dan Makanan Nomor 32 Tahun 2019 Tentang Persyaratan Keamanan Dan Mutu Obat Tradisional. Retrieved January 22, 2020, from <https://asrot.pom.go.id/asrot/index.php/download/dataannounce2/204/Per BPOM 32 Tahun 2019 Persyaratan dan Keamanan Mutu OT.pdf>
- BSN. (2014). *SNI 8076: 2014 Kolagen kasar dari sisik ikan – Syarat mutu dan pengolahan*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Cardoso, V.S., Quelemes, P.V., Amorin, A., Primo, F.L., Gobo, G.G., Tedesco, A.C., Mafud, A.C., Mascarenhas, Y.P., Corrêa, J.R., Kuckelhaus, S.A et al., 2014. Collagen Based Silver Nanoparticles for Biological Applications: Synthesis and Characterization, *Journal of Nanobiotechnology*, 12 (36), pp. 1-9.
- Chaplin, M.F., and Bucke., 1990. Enzyme Technology, Cambridge University Press. Cambridge, Great Britain.
- Christy, Meilty Ishak., 2012. Pengaruh Proses Pengeringan dan Imobilisasi Terhadap Aktivitas dan Kestabilan Enzim Bromelain dari Buah Nenas (*Ananas comosus* (L) Merr). *Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Makassar*.

- Cosmetic Ingredient Review Expert Panel., 2017. Safety Assessment of Ectodermal-Derived Proteins and Peptides as Used in Cosmetics. Washington DC, cirinfo@cir-safety.org
- Cozza N, Bonani W, Motta A, Migliaresi C, 2016. Evaluation of alternative sources of collagen fractions from *Loligo vulgaris* squid mantle. *Int J Biol Macromol*, 87, pp. 504-13.
- Darwis A Azis dan Sakara E, 1990. Isolasi, Pemurnian dan Karakterisasi Enzim. IPB, Bogor.
- Febram, B., Wientarsih, I., & Pontjo, B., 2010, Aktivitas sediaan salep ekstrak batang pohon pisang Ambon (*Musa Paradisiaca Var Sapientum*) dalam proses persembuhan luka pada mencit (*Mus Musculus Albinus*). *Majalah Obat Tradisional*, 15(3), pp. 121–137.
- Gadi, D. S., Trilaksani, W. & Nurhayati, T., 2017. Histologi, Ekstraksi Dan Karakterisasi Kolagen Gelembung Renang Ikan Cunang *Muarenesox talabon*. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), pp. 1689-1699.
- Gonzalez-Rios, A. Borges, M. Simoes. 2015. Antibacterial effects and mode of selected essensial oils components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Evid Based Complement Alternat Med. <https://dx.doi.org/10.1155%2F2015%2F795435>.
- Hanny Setyowati, W.S., 2015. Potensi Nanokolagen Limbah Sisik Ikan Sebagai Cosmeceutical. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 12(1), pp. 30–40.
- Hartati, I. 2010. Kajian Produksi Kolagen Dari Limbah Sisik Ikan Secara Enzimatis. Teknik Kimia Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Ikoma, T., Kobayashi, H., Tanaka, J., Walsh, D., dan Mannb, S., 2003. Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of *Pagrus major* and *Oreochromis niloticas*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 32: 199-204.
- Irwanda, W. F., Andrie, M. & Luliana, S., 2015. Uji Efek Penyembuhan Luka Sayat Ekstrak Ikan Toman (*Channa micropellets*) secara Oral pada Tikus Putih Jantan Wistar. Volume 4, pp. 1-14
- Jongjareonrak A, Benjakul S, Visessanguan W, Tanaka M., 2005, Isolation and characterization of collagen from bigeye snapper (*Priacanthus macracanthus*) skin. *J Sci Food Agr* 85(7): pp.1203–1210. doi:10.1002/jsfa.2072
- Karimi, M., P. Parsaei, S.Y. Asadi, S. Ezzati, R.K. Boroujeni, A. Zamiri & M. Rafieian-Kopaei. (2013). Effects of *Camellia sinensis* Ethanolic Extract on Histometric and Histopathological Healing Process Of Burn Wound In Rat. *Middle-East Journal Of Scientific Research*.13: 14-19. Katili, A. S. 2009. Struktur Dan Fungsi Protein Kolagen. *Jurnal Pelangi Ilmu*, 2(5), pp., 19–29.

- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2018. Produktivitas Perikanan Indonesia. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Ketnawa S, Rawdkuen S, Chaiwut P., 2010. Two phase partitioning and collagen hydrolysis of bromelain from pineapple peel Nang Lae cultivar. *Biochemical Engineering Journal*, 52(2-3), pp.205-211.
- Kiew, P. L., Mat Don, M., 2013. The influence of acetic acid concentration on the extractability of collagen from the skin of hybrid *Clarias* sp. and its physicochemical properties: a preliminary study. Focusing on Modern Food Industry (FMFI), 2, 123–128.
- Kim, B. S., Choi, J. S., Kim, J. D., Yoon, H. I., Choi, Y. C., & Cho, Y. W., 2012. Human collagen isolated from adipose tissue. *Biotechnology Progress*, 28(4), pp. 973–980. <https://doi.org/10.1002/btpr.1555>
- Kołodziejska, I., Sikorski, Z. E., & Niecikowska, C., 1999. Parameters affecting the isolation of collagen from squid (*Illex argentinus*) skins. *Food Chemistry*, 66(2), pp. 153–157.
- Ky, P. X. et al., 2018, Investigation of protein patterns and antioxidant activity of collagen hydrolysates from skin of Fan-bellied leather jacket *Monacanthus chinensis* by various enzymes. *Journal of Marine Science and Technology*, 18(4), pp. 141-150.
- Lambers, H., S. Piessens, A. Bloem, H. Pronk, P. Finkel. 2006. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *International Journal of Cosmetic Science* Oct;28(5):359-70. doi: 10.1111/j.1467-2494.2006.00344.x.
- Liu, D., Wei, G., Li, T., Hu, J., Lu, N., Regenstein, J. M., & Zhou, P. 2014. Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *FOOD CHEMISTRY*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.147>
- Mansjoer, A. 2000. Kapita Selekta Kedokteran. Edisi III, Penerbit Media Aesculapius FKUI: Jakarta. Hal: 396.
- Minggu, E. (2018). Ekstraksi Kolagen Limbah Sisik Ikan dengan Penambahan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) untuk Penyembuhan Luka Insisi Kulit Tikus. Universitas Kristen Duta Wacana.
- Miladiyah, I. dan Prabowo, B. R., 2012. Ethanolic extract of Anredera cordifolia (Ten.) Steenis leaves improved wound healing in guinea pigs. *Universa Medicina*, 31(1), 4-11.
- Muralidharan, N., Jeya Shakila, R., Sukumar, D., Jeyasekaran, G., 2013. A Skin, Bone and Muscle Collagen Extraction from The Trash Fish, Leather Jacket (*Odonus niger*) and Their Characterization. *Journal of Food Science Technology*, 50, 1106–1113.
- Nagai, T., 2004, Collagen from diamondback squid (*Thysanoteuthis rhombus*) outer skin. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of*

- Biosciences*, 59(3–4), pp. 271–275. <https://doi.org/10.1515/znc-2004-3-426>
- Nurjanah, Jacoeb AM, Nugraha R, Sulastri S, Nurzakiah, Kamila S., 2012, Proximate, nutrient and mineral composition of cuttlefish (*Sepia recurvirostra*). *Journal of Food Science and Technology* 4(4): pp. 220-224.
- Ogawa, M., Portier, R.J., Moody, M.W., Bell, J., Schexnayder, M.A. & Losso, J.N., 2004, Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonis cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry*, 88, pp. 495-501.
- Orsini RA. 2006. Bromelain. *Plastic and Reconstructive Surgery* 118, pp. 1640-1644.
- Payne, D.E., N.R. Martin, K.R. Parzych, A.H. Rickard, A. Underwood, B.R. Boles, 2013. Tannic acid inhibits *Staphylococcus aureus* surface colonization in an IsaA-Dependent Manner. *Infection and Immunity*, American Societr for Microbiology. Vol. 81. No. 2.
- Pusponegoro AD. 2005. Luka Dalam Buku Ajar Ilmu Bedah Edisi ke-2. Jakarta: EGC, Penyunting: Sjamsuhidajat R, De Jong W..
- Putri, I. N. W., 2018, Perbandingan Efektivitas Silver Sulfadiazine dan Madu dalam Penyembuhan Luka Bakar. pp. 15-18.
- Raman, M. & Mathew, S., 2012. Study of chemical properties and evaluation of collagen in mantle, epidermal connective tissue and tentacle of Indian Squid, *Loligo duvauceli Orbigny*. 51(8), pp. 1509-1516.
- Ran, X.G. and Wang, L.Y., 2014. Use of ultrasonic and pepsin treatment in tandem for collagen extraction from meat industry by-products. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94(3): pp. 585-590.
- Robson MC, Steed DL, Franz MG., 2001. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg*; 38: pp. 72 – 140.
- Saanin, Hasnuddin., 1984. Kunci dan Identifikasi Ikan. Binatjipta. Bandung
- Sadikin M. 2002. Biokimia Enzim. Widya Medika. Jakarta.
- Santoso J, Nurjanah, Irawan A., 2008. Kandungan dan kelarutan mineral pada cumi-cumi (*Loligo* sp) dan udang (*vannamei Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia* 15(1): pp. 7-12
- Schuler L., 2006. Model animals and quantitative genetics. Bogor (ID): Fakultas Peternakan IPB.
- Senaratne, L. S., Park, P. J., & Kim, S. K., 2006. Isolation and characterization of collagen from brown backed toadfish (*Lagocephalus gloveri*) skin.

- Bioresource Technology*, 97(2), 191–197.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.024>
- Setyowati, Hanny dan Setyani, Wahyuning., 2015. Potensi Nanokolagen Limbah Sisik Ikan Sebagai Cosmeceutical. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, hlmn. pp. 30-40.
- Silaban, I., & Rahmanisa, S., 2016. Pengaruh Enzim Bromelin Buah Nanas ( *Ananas comosus* L.) terhadap Awal Kehamilan Effect of bromelin in Pineapple ( *Ananas comosus* L .) on Early Pregnancy. *Majority*, 5(4), pp. 80–85.
- Silva, T. H. et al., 2014. Marine origin collagens and its potential applications. *Marine Drugs*, 12(12), pp. 5881-5901.
- Simanjuntak, B., 2013. Pengolahan Kolagen Kulit Ikan Nila Merah. Balai Besar Penelitian Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Singht P, Benjakul S, Maqsood S, Kishimura H. 2011. Isolation and characterization of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Food Chemistry* 124: pp. 97-105.
- Schmidt, M. M., Dornelles, R. C. P., Mello, R. O., Kubota, E. H., Mazutti, M. A., Kempka, A. P. and Demiate, I. M. (2016). Collagen Extraction Process. *International Food Research Journal*, 23(3), 913-922.
- Tanti, M., E., Harlia, E. & Hidayati, A., 2018. Effectiveness Of Pineapple Waste (Ananas Comosus) As Natural Disinfectant In Milk Cans. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 18(1), pp. 60-64.
- Tridhar, Noorman Adhi. 2016. Perbandingan Produksi Kolagen dari Sisik dan Tulang Ikan Gurame (*Oosphronemus gouramy*) secara Kimia dan Enzimatis. Universitas Padjajaran.
- Triyono, B., 2005, Perbedaan Tampilan Kolagen Disekitar Luka Insisi Pada Tikus Wistar yang diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain dan yang Tidak diberi Levobupivakain. Universitas Diponegoro.
- Tziveleka, L.A., Ioannou, E., Tsiorvas, D., Berillis, P., Foufa, E., & Roussis, V., 2017. Collagen from the Marine Sponges *Axinella cannabia*and *Suberites carnosus*: Isolation and Morphological, Biochemical, and Biophysical Characterization. *Marine Drugs*, 15, 152 doi:10.3390/md15060152
- Utami, P., Susi, L. & Lestari, S. D., 2016. Pengaruh Metode Pemasakan Terhadap Komposisi Kimia Dan Asam Amino Ikan Seluang (Rasbora Argyrotaenia). *Fishtech*, 5(1), pp. 73-84.
- Veeruraj, A., Arumugam, M., Ajithkumar, T., & Balasubramanian, T. (2015). Isolation and characterization of collagen from the outer skin of squid (*Doryteuthis singhalensis*). *Food Hydrocolloids*, 43, 708e716-716.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.025>

- Vanwijck R., 2001. Surgical biology of wound healing. Bull Mem Acad R Med Belg; 115: pp. 175 – 184.
- Zhou, P. & Regenstein, J.M., 2005. Effects of alkaline and acid pretreatments on alaska pollock skin gelatin extraction. *Journal of Food Science* 70(6), pp. 392-396.

©UKDW